

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 04-005240

(43)Date of publication of application : 09.01.1992

(51)Int.Cl.

A61K 37/02

(21)Application number : 02-105060

(71)Applicant : TAISHO PHARMACEUT CO LTD

(22)Date of filing : 20.04.1990

(72)Inventor : MIZOGAMI KAZUTOSHI

ITO MAYUMI

ITO YUMIKO

HANADA KAZUNORI

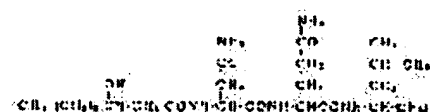
(54) ANTIDEMENTIAL AGENT

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain an antidemential agent effective in promoting the formation and the activity of NGF having action to suppress the deciduation of neurocyte by using a specific tripeptide derivative as an active component.

CONSTITUTION: The objective antidemential agent having the above effect and useful as a remedy for Alzheimer-type dementia supposed to be caused by the selective deciduation of cholinergic neurocyte of procephalic basal field can be produced by using a tripeptide derivative of formula as an active component.

The above compound is separated from *Aspergillus* sp. F-1656 (FERM BP-1502). It can be administered orally or parenterally and the preferable dose of the compound is 0.3-30 mg/kg (especially 1-20 mg/kg) for oral administration and 0.1-10 mg/kg (especially 0.5-5 mg/kg) for intravenous injection.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of

rejection]

[Kind of final disposal of application other than
the examiner's decision of rejection or
application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

⑫ 公開特許公報(A) 平4-5240

⑤ Int. Cl.⁵

A 61 K 37/02

識別記号

AAM

庁内整理番号

8317-4C

④ 公開 平成4年(1992)1月9日

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全4頁)

⑭ 発明の名称 抗痴呆剤

⑯ 特 願 平2-105060

⑰ 出 願 平2(1990)4月20日

⑱ 発 明 者 溝 上 一 敏 東京都豊島区高田3丁目24番1号 大正製薬株式会社内
 ⑲ 発 明 者 伊 藤 ま ゆ み 東京都豊島区高田3丁目24番1号 大正製薬株式会社内
 ⑲ 発 明 者 伊 藤 由 美 子 東京都豊島区高田3丁目24番1号 大正製薬株式会社内
 ⑲ 発 明 者 花 田 和 紀 東京都豊島区高田3丁目24番1号 大正製薬株式会社内
 ⑳ 出 願 人 大正製薬株式会社 東京都豊島区高田3丁目24番1号
 ㉑ 代 理 人 弁理士 北川 富造

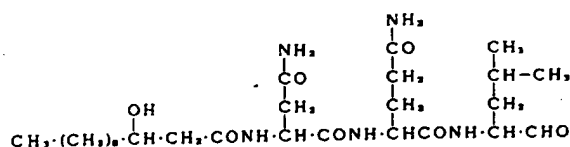
明 細 書

1. 発 明 の 名 称

抗痴呆剤

2. 特 許 請 求 の 範 囲

(1) 式



て表わされるトリペプチド誘導体を有効成分として含有することを特徴とする抗痴呆剤。

3. 発 明 の 詳 細 な 説 明

〔産業上の利用分野〕

本発明は、トリペプチド誘導体を有効成分として含有することを特徴とする抗痴呆剤に関し、更に詳しくは、NGF作用増強効果およびNGF産生促進効果を有するトリペプチド誘導体を有効成

分として含有することを特徴とする抗痴呆剤に関する。

〔従来の技術〕

本発明の有効成分である化合物は、特開平1-279899号公報に開示されている。しかし、アルツハイマー型痴呆症への有効性については全く知られていない。

〔発明が解決しようとする課題〕

近年増えつつあるアルツハイマー型痴呆症は、前脳基底野のコリン作動性神経細胞が選択的に脱落するために起こると言われている。

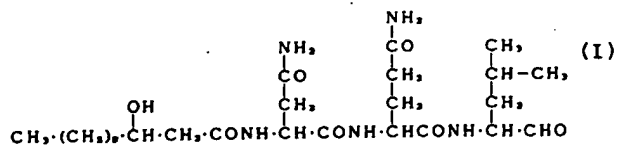
NGFは、この神経細胞の脱落を抑制する作用があることから、NGF作用増強効果およびNGF産生促進効果を有する化合物の開発が強く望まれている。

〔課題を解決するための手段〕

本発明者らは、近年増えつつあるアルツハイ

マー型痴呆症の治療薬を開発するために、神経細胞の脱落を抑制する作用があるNGFの作用増強効果あるいはNGF産生促進効果を有する物質の検索を続け、

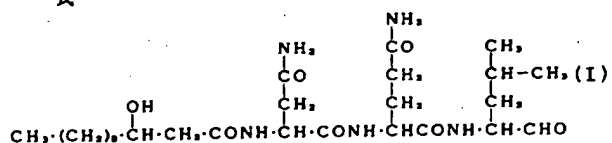
式



で表わされる化合物がNGFの作用増強効果およびNGF産生促進効果を有することを見出し、さらにその知見に基づいて本発明を完成するに至った。

本発明は

式



で表わされるトリペプチド誘導体を有効成分と

が挙げられる。非経口的には、植物油、エタノール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール類、カカオ脂、ラウリン脂、グリセリンなどが挙げられる。

また、投与剤型としては、錠剤、散剤、カプセル剤の如き固形剤であってもよく、溶液、懸濁液の如き液剤であっても良い。更に、非経口的に投与する場合には、注射剤、点滴用液剤あるいは坐剤としても用いることができる。

化合物(I)の投与量は、投与経路、病疾患の種類、程度、患者の年齢、体重、症状などによっても変動するが、通常1日当り経口投与の場合は、0.3~30mg/kg、とりわけ1~20mg/kg、静脈内投与の場合は0.1~10mg/kgとりわけ0.5~5mg/kgが好ましい。

【発明の効果】

本発明の有効成分であるトリペプチド誘導体は、神経細胞の脱落を抑制する作用をもつNGFの作用増強効果およびNGF産生促進効果を有す

して含有することを特徴とする抗痴呆剤である。

本発明の有効成分である式(I)の化合物(以下、化合物(I)と略称する。)は、本発明者らが、特開平1-279899号公報に記載の如く、京都市上京区で採取した土壌より新たに分離した菌株、微生物の名称「Aspergillus. sp. F-1656」および微生物寄託番号「微工研条寄第1502号(FERM BP-1502)」として、工業技術院微生物工業技術研究所に寄託されている菌株より単離した化合物である。

化合物(I)は経口的にも非経口的にも投与することができ、製剤化の際は、適当な医薬担体を用い、常法により製造する。医薬担体としては、経口的には、乳糖、マンニットなどの糖類、デンプン類、結晶セルロース、クエン酸カルシウム、第2リン酸カルシウム、ゼラチン、デキストリン、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン、ステアリン酸およびそのマグネシウム塩もしくはカルシウム塩、タルクなど

るので抗痴呆剤として有用である。

【実施例】

以下、実施例および試験例を挙げて本発明を具体的に説明する。

実施例1

(カプセル剤)

主薬	0.5g
微結晶セルロース	80g
トウモロコシデンプン	20g
乳糖	16.5g
ポリビニルピロリドン	3g

全量 120g

上記成分常定により顆粒化したのち、ゼラチン硬カプセル1000カプセルに充填した。1カプセルに主薬0.5mgを含有する。

実施例 2

(散剤)

主薬	5 g
微結晶セルロース	400 g
トウモロコシデンプン	595 g

全量 1000 g

主薬をエタノールに溶解し、次いでこれを微結晶セルロースに吸着させたのち、乾燥した。これをトウモロコシデンプンと混合し、常法により散剤として200倍散を調製した。

実施例 3

(錠剤)

主薬	5 g
トウモロコシデンプン	100 g
乳糖	200 g
カルボキシメチルセルロースカルシウム	150 g
微結晶セルロース	395 g

上昇などを示し、神経様細胞へと分化する。この性質を利用し、本培養細胞へNGFと本発明化合物を同時添加して本発明化合物のNGF作用増強効果を調べた。

(試験方法)

PC-12細胞を10%牛胎児血清、5%馬血清、50ユニット/mlペニシリン、50μg/mlストレプトマイシンを含有するダルベッコ改変イーグル培地(ギブコ社製、高グルコース含有)にて、 2×10^4 細胞/mlに調製し、コラーゲンコート24孔プレート(コーニング社製、培養孔あたりの面積 2 cm^2)へ、0.5ml/孔ずつ播き、37°C、5%CO₂で培養した。24時間後、プレート下部に付着したPC-12細胞を残して、NGF(シグマ社製、2.5g)と各種濃度の本発明化合物を含む上記培地0.3ml/孔と交換し、各種サンプルを調製した。

ここで、NGFは0.1%牛血清アルブミンを含むPBS(カルシウム・マグネシウム不含リン酸緩衝生理食塩水)に溶解し、培地に溶かした最終

ポリビニルピロリドン	50 g
タルク	100 g

全量 1000 g

主薬をエタノールに溶解し、次いでこれを微結晶セルロースに吸着させたのち、乾燥した。これにトウモロコシデンプン、乳糖、カルボキシメチルセルロースカルシウム、微結晶セルロースを加え混合した。次いでポリビニルピロリドンの水溶液を結合剤として加えて常法により顆粒化した。これにタルクを加え混合したのち、1錠100mgの錠剤に打錠した。1錠中には主薬0.5mgを含有する。

試験例 1 (NGF作用増強効果)

NGF作用増強効果は、PC-12細胞の突起伸長で評価した。

PC-12細胞は、NGFに反応して神経突起の伸長、神経伝達物質の生合成に関する酵素活性の

濃度が0.5ng/mlとなるように添加した。また、本発明化合物はメタノールに溶解し、培地に溶かした最終濃度が下記第1表に示す各種濃度となるように添加した。なお、比較としてNGF、本発明化合物共に加えない無添加サンプル、本発明化合物のみ加えない対照サンプルも調製した。

このように調製した各種サンプルを48時間培養した後、PC-12細胞の神経突起の伸長を顕微鏡下に観察した。

観察結果を、細胞の突起長で4段階に分類し、形態変化のない細胞を0点、突起の伸長を伴わず、形態変化を起こした細胞を1点、細胞体の直径以内の突起を持つ細胞を2点、細胞体の直径以上の突起を持つ細胞を3点と点数化し、100細胞の合計点を突起伸長活性とした。

(結果)

結果を第1表に示す。

表 1



表 1 (NGF作用増強効果)

サンプル	突起伸長活性
無添加	12
対照(NGFのみ添加)	27
NGF+化合物(I) 0.1 μ M	26
NGF+化合物(I) 0.3 μ M	50
NGF+化合物(I) 1.0 μ M	120

試験例2 (NGF産生促進効果)

(試験方法)

NGF産生促進効果はLM細胞のNGF産生量で評価した。LM細胞を、0.5%バクトペプトン、50ユニット/mlペニシリン、50 μ g/mlストレプトマイシンを含有する199培地(ギブコ社製)にて、 1.4×10^5 cells/mlに調製し、24孔プレート(コニング社製、培養孔あたりの面積2.0cm²)へ、0.5ml/孔ずつ播き、37℃、5%CO₂で培養した。コンフルエントとなった72時間後、各種濃度の被験化合物を含む上記培地0.5ml/孔

と交換した。被験化合物は、ジメチルスルホキシド0.5%に溶解した後、上記培地と混合した。なお、コントロールは、被験化合物を加えずにジメチルスルホキシドのみ添加した。24時間培養後、培地中のNGF濃度を酵素免疫測定法[S. Furukawaら: J. Neurochem., 第40巻, 第734頁~第744頁(1984年)]によって測定した。活性はコントロールを100%として示した。

(結果)

結果を表2に示す。

表 2 (NGF産生促進効果)

サンプル	NGF産生
対照	100
化合物(I) 1 μ M	130
化合物(I) 3 μ M	640
化合物(I) 10 μ M	306

(単位: %)

試験例3 (急性毒性試験)

ICR系雄性マウス(5週齢、体重約20g)10匹を1群(対照群は1群10匹)として試験に供した。本発明化合物を生理食塩水に溶解または懸濁し、各種濃度の被検体(有効成分1.3.9.27mg/kg)を調製し、生理食塩水を対照群とした。各種濃度の被検体をマウスに1回腹腔内投与し、7日間観察を行ない、リッチフィールド・ウィルコックソン法により50%致死量(LD₅₀値)を求めた。

その結果、本発明化合物のLD₅₀値は25mg/kg以上であった。

特許出願人 大正製薬株式会社

代理人 弁理士 北川 富造

